AUS DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄTS-KLINIK TÜBINGEN

BEITRAG ZUR ANWENDUNG DES ANTIFORMIN-VERFAHRENS FÜR DEN TUBERKELBAZILLEN-NACHWEIS.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

IN DER

MEDIZIN, CHIRURGIE UND GEBURTSHILFE

UNTER DEM PRÄSIDIUM

VON

DR ERNST v. ROMBERG

O.Ö. PROFESSOR DER MEDIZIN UND VORSTAND DER MEDIZINISCHEN KLINIK IN TÜBINGEN

DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN

VORGELEGT

VON

HARRY BENJAMIN

MEDIZINALPRAKTIKANT AUS BERLIN.

ACAD. MED. BAT. BIBL.

TÜBINGEN

VERLAG VON FRANZ PIETZCKER

1911.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Tübingen.

Referent: Prof. Dr E. v. Romberg

April 1911.

Buchdruckerei G. Schnürlen, Tübingen.

MEINEN LIEBEN ELTERN

in Dankbarkeit gewidmet.

Die Notwendigkeit, in manchen Fällen von Tuberkulose der Lungen, der Harnwege oder anderer Organe die klinische Diagnose durch den Nachweis von Tuberkelbazillen zu sichern, hat im Laufe der Jahre eine grosse Anzahl von Untersuchungsmethoden und Anreicherungsverfahren gezeitigt, die jedoch alle nicht im Stande waren, die daran geknüpften Erwartungen zu erfüllen. Sie hatten alle den Nachteil, dass sie entweder zu umständlich in der Ausführung oder zu unzuverlässig in den Resultaten waren.

Es bedeutete deshalb einen gewaltigen Fortschritt, als Uhlenhuth (1) sein neues Antiforminverfahren für den Nachweis der Tuberkelbazillen veröffentlichte. Ein genaueres Eingehen auf diese Methode erübrigt sich, da ich sie als bekannt voraussetzen darf.

Die Zahl der in den letzten Jahren im Anschluss an die Uhlenhut'sche Veröffentlichung erschienenen Arbeiten ist so gross, dass ich mich darauf beschränken werde, nur diejenigen zu erwähnen, die bei der mir gestellten Aufgabe in Betracht kommen. Allen liegt die Absicht zu Grunde, die Zuverlässigkeit der ursprünglichen Methode nachzuprüfen und in dieser oder jener Richtung Verbesserungen oder Vereinfachungen des Verfahrens zu erzielen.

Soll eine derartige Untersuchungsmethode nicht nur im Laboratorium der Klinik, sondern auch in dem Sprechzimmer des praktischen Arztes Verwendung finden, dann muss sie so beschaffen sein, dass sie in möglichst kurzer Zeit und mit möglichst einfachen Hilfsmitteln die Untersuch-

ung einer möglichst grossen Sputum- oder Harnmenge in einer Sitzung ermöglicht.

Für die Bewertung eines solchen Verfahrens soll also nicht nur die Stärke der Anreicherung massgebend sein, wie es von vielen Autoren betont wird, sondern auch die Erfüllung der eben genannten Forderungen. Es müssen daher von diesem Gesichtspunkte aus eine ganze Anzahl der veröffentlichten Verfahren hier unberücksichtigt bleiben, wenn sie z. B. zu ihrer Durchführung mehrere Stunden beanspruchen, besondere technische Fertigkeiten voraussetzen oder die Verwendung eines Brutschrankes, einer Centrifuge mit hoher Umdrehungszahl, eines Schüttelapparates usw. erfordern. Unter diesen Umständen schien es mir eine dankenswerte Aufgabe zu sein, auf Grund der bisher mitgeteilten Verfahren eine Methode, die die obigen Vorzüge in sich vereinigt, auszuarbeiten und an einem grösseren Material zu prüfen.

Die erste Forderung, die wir an ein Anreicherungsverfahren stellen, schnelle und vollkommene Homogenisierung des Auswurfs oder Harnsediments, so dass etwa darin enthaltene Tuberkelbazillen frei in der Lösung schwimmen, wird in bester Weise durch das von Uhlenhuth (1) eingeführte Antiformin*) erfüllt. Fast alle Autoren sind darin einig, dass es der früher benutzten Natron- oder Kalilauge weit überlegen ist. Eine 15—20 % Antiforminlösung verwandelt selbst dicke Sputumballen bei Zimmertemperatur innerhalb einer halben Stunde in eine völlig homogene flüssige Masse. Mit Ausnahme der Tuberkelbazillen und einiger anderer säurefester Stäbchen unterliegen alle Bakterien der auflösenden Kraft des Antiformins. Der ungeheure Wert dieser Eigenschaft liegt auf der Hand: von einem tuberkelbazillen-

*) Näheres über die Eigenschaften des Antiformins siehe Uhlenhuth: Antiformin, ein bakterienauflösendes Desinfektionsmittel. Centralblatt für Bakteriologie I. Abt. Bd. 42 Beiheft. Es ist der Firma Oskar Kühn-Berlin patentiert und wird in Flaschen mit 1 kg Inhalt geliefert. (Cit. nach Goerres, s. Lit.-Verz. Nr. 16.)

haltigen Auswurf bleibt nach Einwirkung des Antiformins, ausser den unveränderten Tuberkelbazillen, nur etwas Detritus (beigemengte Speisereste usw.) übrig.

Bei meinen sämtlichen Versuchen hat sich eine 25 % Lösung am besten bewährt. Wenn ich selbst die zähesten und dicksten Sputa mit etwa der fünffachen Menge dieser Lösung versetzte und mehrmals schüttelte, um auch mechanisch auf dicke Ballen einzuwirken, so bildete sich in längstens einer Viertelstunde eine trübe, vollkommen homogene, gelblich gefärbte Flüssigkeit. Eine Ausnahme bezüglich der Dauer der Homogenisierung machen nur die bluthaltigen Sputa. Je mehr geronnenes Blut sie enthalten, um so länger dauert die völlige Auflösung, unter Umständen bis zu mehreren Stunden.

Auch nach meinen Erfahrungen empfiehlt es sich, die Antiforminlösung mit destilliertem Wasser herzustellen; es wird dadurch erstens vermieden, dass die im Leitungswasser mehr oder weniger reichlich gelösten Salze ausfallen und störend einwirken, zweitens schliesst man dadurch eine Fehlerquelle mit ziemlicher Sicherheit aus, auf die Beitzke (3) aufmerksam gemacht hat: dass nämlich säurefeste Stäbchen, die von Tuberkelbazillen morphologisch nicht zu unterscheiden sind und auch dem Antiformin widerstehen, in manchen Wasserleitungsröhren vorkommen.

Die zweite Aufgabe eines Anreicherungsverfahrens besteht in einer möglichst schnellen und sicheren Einengung der Bazillen.

Die Benutzung einer Centrifuge, die zu diesem Zwecke am nächsten liegt, bedeutet aber bereits eine Erschwerung, die dem von mir erstrebten Ziel hinderlich wäre. Höchstens erschien mir die Verwendung einer kleinen Handcentrifuge zulässig. Es konnten also z. B. die von Hüne (4) oder von Thilenius (5) geübten Verfahren, bei denen sehr lange centrifugiert wird oder eine grössere Centrifuge mit 5000 Umdrehungen in der Minute erforderlich ist, nicht in Betracht kommen.

Da aber die Tuberkelbazillen spezifisch sehr leicht sind und sich dem spezifischen Gewicht des Antiformins sehr nähern, so ist es unmöglich, sie durch eine kurz dauernde Benutzung einer Handcentrifuge genügend nach unten einzuengen. Durch eine entsprechende Verdünnung mit Alkohol gelingt es allerdings leicht, das spezifische Gewicht der Lösung so weit herabzusetzen, dass man selbst mit geringer Kraft die Bazillen ausschleudern könnte; es besteht aber dann bei den kleinen Gläschen der Handcentrifuge der Nachteil, dass man bei stärkerer Verdünnung in jedem Gläschen zu wenig Material verarbeiten kann, denn das Antiformin löst sehr vollkommen und der Niederschlag ist sehr gering. Man müsste also mehrmals abgiessen und nachfüllen, um ein genügendes Sediment zu erhalten, eine umständliche und zeitraubende Arbeit, wenn man grössere Mengen Auswurf auf einmal untersuchen will.

Es ist daher zweckmässig, vor der Centrifugierung der Antiformin-Sputum-Lösung eine Substanz zuzusetzen, die einen spezifisch schweren Niederschlag erzeugt und die Bazillen zu Boden reisst. Für diesen Zweck hat sich mir eine Normalcalciumchloridlösung (gleich 5,5 % Calcium chloratum siccum) bewährt, die von Zahn (6) angegeben worden ist, allerdings zu etwas anderem Zweck. Zahn homogenisiert durch Kochen mit Kalilauge, fällt dann die Bazillen mit Normalcalciumchloridlösung, zentrifugiert unter mehrmaligem Abgiessen und Nachfüllen das ganze Material mit einer kleinen Centrifuge und verstreicht unter Erwärmung den gesamten Niederschlag auf einem Objektträger. Er rechnet damit, dass dann beim Färben die Säure, unter Zurücklassung der organischen Substanz, den Kalk auflöst und ursprünglich sehr dicke Stellen des Ausstrichs sich so aufhellen. Mende (7) lobt dieses Verfahren in Verbindung mit Antiformin. Ich verzichtete bei meinen Vorversuchen auf das Abgiessen und Nachfüllen und untersuchte den Niederschlag nur aus einem Centrifugenröhrchen, damit allerdings weit weniger Material.

Wie schon Zahn angab, kann man in Ermangelung einer

Centrifuge den Niederschlag auch abfiltrieren und den Filterrückstand mit der Oese abnehmen. Trotz Anwendung der dünnsten Filter vergingen aber nach meinen Erfahrungen oft mehrere Stunden, bis genügend Flüssigkeit durchfiltriert war, um einen hinreichenden Rückstand zu erhalten. Es dauerte offenbar so lange, weil die feinen Teilchen des Niederschlages die Poren des Filters verstopfen und die Flüssigkeit dann mehr verdunstet als filtriert. Jedenfalls machte dieser Nachteil die Methode für meine Zwecke ungeeignet, umsomehr als die Stärke der Anreicherung dabei meist geringer ist, als bei Verwendung der Centrifuge, wie aus Tabelle I hervorgeht.

Diese zeigt an einigen Fällen von sicherer Lungentuberkulose mit positivem Bazillenbefund im gewöhnlichen Ausstrich die Stärke der Anreicherung mit dem Antiforminverfahren bei Verwendung von Calciumchloridlösung mit Filtrierung bezw. Centrifugierung, einige Male auch verglichen mit dem alten Biedert'schen Verfahren in der Modifikation von Mühlhäuser-Czaplewsky. Die Zahlen auf der Tabelle bedeuten den Durchschnitt der Bazillenzahl in einem Gesichtsfeld (Leitz, Oelimmersion), gewonnen aus 5 Gesichtsfeldern von möglichst verschiedenen Stellen des Präparates. Aus der Tabelle geht hervor, dass das Biedert'sche Verfahren, abgesehen von der Unbequemlichkeit der Ausführung, durchaus hinter den anderen zurücksteht, ferner, dass das Centrifugat meist bessere Resultate liefert, als das Filtrat.

TABELLE I.

10 Fälle von sicherer Lungentuberkulose.

Durchschnittszahl von Tuberkelbazillen aus 5 Gesichtsfeldern des Präparats bei gewöhnlichem Ausstrich, Antiformin- und Biedert'schem Verfahren.

Nr.	Gewöhnlicher Ausstrich	Antiformin-Chlorcalcium		Biedert
		Centrifugat	Filtrat	
1.	10	zahllos	zahllos	36
2.	3	36	20	2

Nr.	Gewöhnlicher Ausstrich	Antiformin-Chlorcalcium Centrifugat	Antiformin-Chlorcalcium Filtrat	Biedert
3.	10	66	78	
4.	10	zahllos	zahllos	40
5.	20	zahllos	zahllos	20
6.	1	2	1—2	
7.	10	50	45	30
8.	4	10	1	3
9.	2	3		10
10.	2	6	3	2

Immerhin haftet diesen Verfahren noch der Nachteil an, dass sie langwierig sind und der Verwendung einer Centrifuge nicht entraten. Ferner waren die Resultate mitunter fraglich, weil das Material durch die Beimengung von Chlorcalcium-Niederschlägen zum Ausstreichen und Färben manchmal ungünstig beschaffen war.

Daher versuchte ich eine andere Art der Einengung der Bazillen, nämlich die Einengung nach oben, wie sie von Lange und Nietsche (8) mit Hilfe des Ligroins*), allerdings noch ohne Benutzung des Antiformins als Homogenisierungsmittel, vorgenommen wurde. Erst Bernhardt (9) und Haserodt (10) kombinierten mit Erfolg das Ligroin mit dem Antiformin.

Wenn das Ligroin durch kräftiges Schütteln mit dem Antiformin-Sputum-Gemisch in innige Berührung gekommen ist, so steigt es vermöge seines geringeren spezifischen Gewichtes wieder nach oben und reisst dabei alle in der Lösung suspendierten festen Teile mit. Und zwar sollen gerade die Tuberkelbazillen am leichtesten mit nach oben gerissen werden, weil sie, wie Lange und Nietsche behaupten, durch ihre Fettwachshülle eine besondere Adhärenz zu dem Ligroin besitzen, eine Tatsache, die allerdings von Jörgensen (11) bestritten wird. Dieser

*) Näheres über die Eigenschaften des Ligroins siehe bei Lange und Nietsche (8) Deutsche Medizinische Wochenschrift 1909 Nr. 10. — Es kann von jedem Drogisten bezogen werden.

nimmt vielmehr an, dass es sich dabei um ein rein mechanisches Mitnachobenreissen handelt. Ich ging nun bei meinen Versuchen so vor, dass ich, ähnlich wie Bernhardt, in einem gut verschliessbaren Masscylinder zu der Antiformin-Sputum-Lösung so viel Ligroin gab, dass es auf der Lösung eine 2 bis 3 mm hohe Schicht bildete. Dann wurde mehrmals kräftig durchgeschüttelt, bis eine dichte Emulsion entstanden war, und die Lösung stehen gelassen. Nach etwa einer Viertelstunde befindet sich an der Oberfläche der Lösung eine trübe, etwas schaumige Schicht, die sich nach kurzer Zeit in 2 Lagen scheidet: eine obere, ganz klare, die Ligroinschicht, und eine ganz dünne, trübe Schicht darunter, zwischen Ligroin und Antiformin, die aus den mitgerissenen festen Partikeln, insbesondere etwaigen Tuberkelbazillen besteht. Aus dieser letztgenannten Schicht werden nun beliebig viel Oesen zum Ausstrich entnommen.

Hierbei sind zwei Punkte zu beachten: erstens ist es nötig, vor dem Zusatz des Ligroins das Antiformin-Sputum-Gemisch mit destilliertem Wasser, am besten zu gleichen Teilen, zu verdünnen, um seine Viscosität zu vermindern, weil letztere das Aufsteigen der Tuberkelbazillen sonst erschwert. Ich konnte mehrfach nachweisen, dass bei Verwendung gleicher Mengen desselben Sputums die Anreicherung stärker war bei vorausgegangener Verdünnung des Antiformin-Sputum-Gemisches, als ohne diese.

Damit stimmt auch die Erfahrung von Haserodt überein, der schlechtere Resultate bei einer 20 %igen als bei einer 5 %-igen Antiforminlösung erhielt, bei der dafür aber die Homogenisierung 24 Stunden dauerte.

Ferner muss der Zusatz an Ligroin nicht zu reichlich bemessen werden, da sonst die Gefahr besteht, dass ein Teil der an der Oese haftenden Tuberkelbazillen verloren geht, wenn die Oese durch eine zu hohe Ligroinschicht hindurchgezogen werden muss. Die Höhe der Ligroinschicht lässt sich aber durch Absaugen mit Fliesspapier beliebig verringern.

Diese Einengung nach oben mit Ligroin hat vor der Calciumchloridsedimentierung zwei wichtige Vorzüge: sie umgeht die Benutzung einer Centrifuge und gestattet die Verarbeitung eines beliebig grossen Materials in einer Sitzung. Bei Verwendung eines entsprechend grossen Masscylinders kann man z. B. bis zu $^1/_4$—$^1/_2$ Liter Sputum auf einmal untersuchen. Gegenüber dem Biedert'schen Verfahren kommt auch noch der Vorteil in Betracht, dass das Kochen fortfällt.

Ueber die Stärke der Anreicherung mit diesem Verfahren gibt Tabelle II Auskunft.

Sie zeigt, dass die Anreicherung im Vergleich zum gewöhnlichen Ausstrichpräparat sehr erheblich und die Ligroinsuspension dem Calciumchlorid-Centrifugat überlegen ist.

TABELLE II.

15 Fälle von sicherer Lungentuberkulose.

Durchschnittszahl von Tuberkelbazillen aus 5 Gesichtsfeldern des Präparats bei gewöhnlichem Ausstrich, Antiformin-Chlorcalcium-Centrifugat und Antiformin-Ligroin-Suspension.

Nr.	Gewöhnlicher Ausstrich	Antiformin-Chlorcalcium-Centrifugat	Antiformin-Ligroin-Suspension
1.	4	10	12
2.	vereinzelt	41	zahllos
3.	1	1	14
4.	2	3	7
5.	7	zahllos	fast Reinkultur
6.	2	6	9
7.	22		zahllos
8.	1	5	7
9.	4	zahllos	zahllos
10.	1		zahllos
11.	1		5
12.	vereinzelt		zahllos
13.	vereinzelt		zahllos
14.	2		zahllos
15.	1		16

Hiernach würde das kombinierte Antiformin-Ligroin-Verfahren für meine Zwecke den Vorzug verdienen, falls es noch die letzte Forderung erfüllt:

Gewinnung eines Materials, das sich bequem auftragen, fixieren und färben lässt.

Dies trifft bei der Ligroinmethode in der Tat zu. Man entnimmt mit einer rechtwinklig abgebogenen Oese aus der oben genannten trüben Schicht beliebig viel Oesen (wenigstens 10) und trägt sie auf ein und dieselbe Stelle des gut vorgewärmten Objektträgers auf. Letzteres ist nötig, weil das Ausstrichmaterial langsam trocknet, langsamer als der Kalkniederschlag bei der Calciumchloridmethode. Dafür erhält man mit dem Ligroinverfahren eine viel dünnere Schicht, die in manchen Fällen fast ausschliesslich aus Tuberkelbazillen besteht, während der Kalkniederschlag oft dicke Schollen bildet, die die Färbung der Bazillen beeinträchtigen oder ihr Auffinden erschweren.

Die Fixierbarkeit des Ausstrichmaterials leidet bei beiden Methoden in gleicher Weise etwas durch das Fehlen von Eiweiss. Dass ein Teil des Ausstrichs beim Abspülen sich vom Objektträger ablöste, habe ich nur bei dem Kalkniederschlag beobachtet. Bei dem Ligroinmaterial genügte mir das dreimalige durch die Flamme ziehen zur Fixierung. Haserodt und Bernhardt erblicken sogar in dem guten Haften des Sediments einen Hauptvorteil der Ligroinmethode. Will man noch sicherer gehen, dann genügt es, das Ausstrichmaterial mit der Oese auf etwas frisches Sputum aufzutragen oder mit etwas Eiweisslösung zu versetzen.

Die Färbung geschieht in der üblichen Weise; dabei empfiehlt es sich, ein allzu starkes Aufkochen des Karbolfuchsins zu vermeiden und bei dem Abspülen keinen zu starken Wasserstrahl zu verwenden.

Nach diesen Ausführungen scheint mir das kombinierte Antiformin-Ligroin-Verfahren in der von mir angeführten und in zahlreichen Vorversuchen geprüften Anordnung in trefflicher

Weise alle die Bedingungen zu erfüllen, die ich eingangs als erforderlich bezeichnete, um das Verfahren auch für die Praxis brauchbar zu gestalten: es ist in kurzer Zeit ausführbar, erfordert keinerlei Hilfsapparate, bietet keine technischen Schwierigkeiten und gestattet die Untersuchung einer grossen Menge Sputum in einer Sitzung.

Dass die Methode aber nicht nur durch die Einfachheit ihrer Ausführung, sondern auch die Zuverlässigkeit ihrer Resultate vor den anderen Verfahren weitaus den Vorzug verdient, habe ich an einer grösseren Zahl von Fällen erprobt. Ich gebe zunächst die von mir geübte Methode wieder:

Vorschrift für die Sputum-Untersuchung.

1. Versetzen einer beliebigen Menge Sputum mit der fünffachen Menge einer 25 % Antiforminlösung (hergestellt mit dest. Wasser). Mehrmals durchschütteln. Nach 10—15 Minuten ist die Homogenisierung gewöhnlich beendet.

2. Zusatz der gleichen Menge destillierten Wassers, Umschütteln.

3. Zusatz von Ligroin, so dass es eine 2—3 mm hohe Schicht auf der Oberfläche des Antiformin-Sputum-Gemisches bildet.

4. Mehrmals kräftig durchschütteln, so dass eine dichte Emulsion entsteht. Stehen lassen.

Nach etwa 10 Minuten ist die trübe Schicht zwischen Ligroin und Antiformin entstanden; daraus Entnahme von etwa 10 Oesen und auftragen auf dieselbe Stelle eines gut vorgewärmten Objektträgers. Trocknen lassen.

6. Fixieren und Färben wie gewöhnlich.

Nach diesem Verfahren untersuchte ich den Auswurf von 60 Kranken, bei denen im gewöhnlichen Ausstrichpräparat keine Bazillen gefunden wurden. Sicherlich sind darunter einzelne Fälle, bei denen ein längeres Durchsuchen des Präparates doch noch ein positives Resultat ergeben hätte; aber gerade die Unsicher-

heit des Erfolges und der Zeitverlust rechtfertigten angesichts der grossen Bedeutung des Nachweises die Anstellung der Anreicherung.

Von den 60 Sputa stammten 10 von Kranken, bei denen klinisch eine Tuberkulose als sicher anzunehmen war, sei es auf Grund des physikalischen Befundes, einer Herdreaktion bei der subcutanen Tuberkulinprobe, oder weil der Bazillennachweis bereits früher einmal erbracht worden war. In über der Hälfte dieser Fälle wurden mit dem Anreicherungsverfahren Bazillen gefunden (Tabelle III a).

Bei den übrigen 50 Fällen (Tabelle III b) war die klinische Diagnose unsicher; hier aber konnte sie mit dem Anreicherungsverfahren 8mal (= 16 %) erhärtet werden. Die einzelnen Befunde sind aus den folgenden Tabellen ersichtlich:

TABELLE III a.

10 klinisch sichere Fälle von Lungentuberkulose mit negativem Bazillenbefund im gewöhnlichen Ausstrich, untersucht mit dem Antiformin-Ligroin-Verfahren.

Nr.	Klinische Diagnose	gew. Ausstrich	Anreicherung
1.	Sichere Tbc. Stadium II	—	+
2.	Sichere Tbc. Stadium II	—	—
3.	Sichere Tbc. Stadium III	—	+
4.	Sichere Tbc. Stadium II—III	—	+
5.	Sichere Tbc. Haemoptoe	—	—
6.	Sichere Tbc.	—	+
7.	Sichere Tbc., Gangraen?	—	—
8.	Sichere Tbc. Stadium III	—	—
9.	Sichere Tbc.	—	+
10.	Sichere Tbc. Stadium II	—	+

TABELLE IIIb.

50 klinisch verdächtige Fälle von Lungentuberkulose mit negativem Bazillenbefund im gewöhnlichen Ausstrich, untersucht mit dem Antiformin-Ligroin-Verfahren.

Nr.	Klinische Diagnose	gew. Ausstrich	Anreicherung
1.	Lungenabzess, Tbc.?	—	+
2.	Bronchitis	—	—
3.	Lungenspitzenkatarrh, Bronchitis	—	—
4.	Lungenspitzenkatarrh alt?	—	+
5.	Lungentuberkulose?	—	—
6.	Tumor Pulm.?	—	+
7.	Doppelseitiger Lungenspitzenkatarrh frisch?	—	—
8.	Beginnender Lungenspitzenkatarrh?	—	—
9.	Asthma bronchiale	—	—
10.	Pleuritis sicca, alter Spitzenkatarrh?	—	+
11.	Bronchitis chron. Tbc.?	—	—
12.	Alte Spitzentuberkulose?	—	—
13.	Bronchiektasen, alte Spitzentuberkulose?	—	—
14.	Peritoneal-Tbc., Spitzentuberkulose alt?	—	—
15.	Lungentuberkulose?	—	—
16.	Bronchitis	—	—
17.	Beiderseitige Spitzentbc.?	—	—
18.	Bronchitis, Spitzentbc.?	—	+
19.	Bronchitis, Spitzentbc.?	—	—
20.	Spitzentbc. alt? Emphysem	—	—
21.	Spitzentuberkulose alt?	—	—
22.	Spitzentbc., Stadium I alt?	—	—
23.	Lungentuberkulose?	—	—
24.	Lungenspitzentbc.?	—	—
25.	Beginnender Lungenspitzenkatarrh?	—	—
26.	Pleuritische Schwarte, Bronchiektasen, Bronchitis	—	—

Nr.	Klinische Diagnose	gew. Ausstrich	Anreicherung
27.	Bronchitis	—	—
28.	Lungenspitzenkatarrh, doppelseitig	—	—
29.	Bronchitis fibrinosa	—	—
30.	Lungentuberkulose?	—	—
31.	Pneumonie	—	—
32.	Spitzentuberkulose? Bronchiektasen	—	—
33.	Hilustuberkulose	—	—
34.	Lungenspitzenkatarrh alt?	—	—
35.	Lungenspitzenkatarrh alt?	—	—
36.	Lungenspitzenkatarrh alt?	—	—
37.	Lungentuberkulose?	—	—
38.	Lungentuberkulose?	—	—
39.	Spitzentuberkulose?	—	—
40.	Haemoptoe	—	+
41.	Lungentuberkulose?	—	—
42.	Spitzenkatarrh alt? Bronchitis	—	—
43.	Spitzenkatarrh alt?	—	—
44.	Bronchitis	—	—
45.	Bronchitis	—	—
46.	Spitzentuberkulose?	—	—
47.	Spitzentuberkulose?	—	—
48.	Haemoptoe Tbc.?	—	+
49.	Spitzenkatarrh alt?	—	—
50.	Lupus, Spitzenkatarrh alt?	—	—

Dieses Resultat erscheint mir sehr befriedigend im Vergleich zu den von anderen Autoren erzielten Erfolgen: Haserodt konnte noch in 7 % der untersuchten verdächtigen Fälle Tuberkelbazillen nachweisen, wo das übliche Ausstrichpräparat versagte. Bei Blasius (12) beträgt die Zahl 2,13 %, bei von Scheven (13) 9,49 %, bei Lange und Nietsche 2,87 %.

Dass es unter Umständen möglich ist, in einer noch grösseren Prozentzahl unsicherer Fälle Bazillen nachzuweisen, haben

Jörgensen und Herzfeld (14) gezeigt, freilich unter Anwendung der komplizierten Doppelmethode von Ellermann und Erlandsen (15). Diese gestattet zwar eine erheblich stärkere Anreicherung, kommt aber wegen ihrer Umständlichkeit für die tägliche Praxis nicht in Betracht.

Wenn andererseits u. a. Herzfeld mit der Antiformin-Ligroin-Methode so relativ schlechte Resultate erzielt hat, so liegt es vielleicht daran, dass er das Antiformin-Sputum-Gemisch nach der Homogenisierung nicht verdünnt und dadurch versäumt hat, die Viscosität der Lösung genügend herabzusetzen. Ich habe auf diesen Punkt oben schon hingewiesen.

Mögen nun auch meine so günstigen Resultate z. T. dadurch bedingt sein, dass ich das gewöhnliche Ausstrichpräparat weniger lange durchsuchte, als es vielleicht die anderen Autoren taten, so erscheinen sie mir doch immer noch erfreulich genug angesichts der ausserordentlichen Zeitersparnis und der Möglichkeit, grosse Mengen Auswurf auf einmal zu untersuchen.

Die Antiformin-Ligroin-Methode benutzte ich nun auch für den Nachweis von Tuberkelbazillen im Harn.

Wichtig erschien mir bei der Anwendung des Antiformins auf Harnsedimente eine möglichst vollständige Trennung der Harnflüssigkeit vom Sediment. Durch Verwendung einer grossen Centrifuge ist dies nicht schwer, wenn man so centrifugieren kann, dass nachher beim Dekantieren der Bodensatz am Glase haften bleibt. Fehlt eine Centrifuge oder will man sie vermeiden, dann muss man das abgestandene Sediment mehrmals mit destilliertem Wasser auswaschen. Die sorgfältige Entfernung des Harns ist deswegen nötig, weil beim Zusammentreffen des alkalischen Antiformins mit Harn, aus diesem sofort mehr oder weniger reichlich die Erdphosphate ausgefällt werden. Diese stören aber das weitere Verfahren sehr, weil sie das bazillenhaltige Material erheblich vermehren und vom Ligroin teilweise

mit nach oben gerissen werden. Sie beeinträchtigen dann auch die Fixierbarkeit des Materials.

In solchen Fällen nun, wo die Harnflüssigkeit nicht vollständig entfernt war und Erdphosphate ausfielen, habe ich versucht, diese durch Ansäuerung des ganzen Gemisches mit verdünnter Essigsäure wieder in Lösung zu bringen. (Indicator: Phenolphtalein.) Dies gelang auch, dabei entstand aber oft eine lang anhaltende Gas- oder Schaumentwicklung, so dass ich von diesem Vorgehen Abstand nehmen musste.

Man ist also genötigt, gut zu centrifugieren oder das Sediment gut auszuwaschen. Darnach unterscheidet sich dann das Verfahren in nichts mehr von dem bei der Sputumuntersuchung.

Die Vorschrift, nach der ich vorging, gebe ich hier wieder:

Vorschrift für die Harnuntersuchung.

1. Gewinnung eines Bodensatzes, der möglichst frei von Harnflüssigkeit ist

a) durch scharfes Centrifugieren oder

b) durch mehrmaliges Auswaschen mit destillierten Wassers und Absetzenlassen.

2. Den Bodensatz mit der 5fachen Menge 25 % Antiformins (hergestellt mit destilliertem Wasser) versetzen und mehrmals schütteln. Die Homogenisierung erfolgt nach etwa 15 Minuten.

3. Versetzen mit der gleichen Menge destillierten Wassers, Umschütteln.

4. Zusatz von so viel Ligroin, dass auf der Lösung eine 2—3 mm hohe Schicht steht.

5. Kräftig mehrmals durchschütteln, bis eine dichte Emulsion entstanden ist.

6. Stehen lassen, bis sich oben die trübe Schicht zwischen Ligroin und Antiformin gebildet hat. (Dauer 10—15 Minuten.)

7. Entnahme von etwa 10 Oesen und Aufbringen auf dieselbe Stelle des vorgewärmten Objektträgers.

8. Trocknen lassen, Fixieren und Färben wie gewöhnlich.

Nach dieser Vorschrift untersuchte ich 22 Fälle, wobei nur zweimal schon im einfachen Sedimentausstrich Tuberkelbazillen gefunden wurden. Das Anreicherungspräparat förderte in diesen beiden Fällen fast eine Reinkultur. Bei den übrigen 20 klinisch verdächtigen Fällen hatte die Cystoskopie die Diagnose zwar mehrfach sehr wahrscheinlich gemacht, aber erst der Bazillennachweis gab die volle Sicherheit, und zwar 6mal, also in 30% der Fälle, wie aus Tabelle IV hervorgeht:

TABELLE IV.

Untersuchung des Harnsediments mit dem Antiformin-Ligroin-Verfahren bei 20 Tuberkuloseverdächtigen Fällen und 2 sicheren Tuberkulosen.

Nr.	Klinische Diagnose	Tuberkelbazillen in gew. Ausstrich	Tuberkelbazillen Anreicherung
1.	Haematurie	—	—
2.	Nephritis, Tumor?	—	—
3.	Cystitis, Nephritis	—	—
4.	Cystitis chron.	—	—
5.	Cystitis tbc.?	—	+
6.	Cystitis, Nephritis	—	—
7.	Nierentbc.?	—	—
8.	Nephritis tbc.?	—	+
9.	Nierentbc.?	—	+
10.	Blasenkatarrh	—	—
11.	Cystitis, Nephritis	—	+
12.	Cystitis m. Ulcera	—	+
13.	Cystitis tbc.?	—	—
14.	Nierentbc.?	—	—
15.	Urogenitaltbc.?	—	—
16.	Blasenblutung	—	—
17.	Cystitis, Nephritis	—	+
18.	Cystitis tbc. Haemat.	+	fast Reinkultur

Nr.	Klinische Diagnose	Tuberkelbazillen in gew. Ausstrich	Tuberkelbazillen Anreicherung
19.	Pyurie, Pyelitis	—	—
20.	Cystitis tbc.	+	zahllos
21.	Haematurie, Cystitis . . .	—	—
22.	Bacteriurie?	—	—

Wenn auch hier wieder, wie bei der Sputumuntersuchung, das Resultat z. T. durch mein verhältnismässig kurzes Durchsuchen des gewöhnlichen Ausstrichpräparates so günstig ausfiel und andererseits die Zahl der bisher untersuchten Fälle noch klein ist, so berechtigt doch eine so grosse Prozentzahl diagnostisch geklärter Fälle zu der Annahme, dass das von mir geübte Anreicherungsverfahren auch für die Untersuchung des Harns wesentliche Vorzüge vor anderen Verfahren aufweist. Ich zweifle nicht, dass das Verfahren sich auch für die Untersuchung von Tuberkulose-verdächtigem Eiter (Knochen-Gelenktuberkulose) und Exsudaten aus serösen Höhlen (Pleura, Peritoneum, Cerebrospinalkanal) eignen wird.

Zum Schlusse dieser Ausführungen komme ich mit Freude der angenehmen Pflicht nach, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor von Romberg für die freundliche Anregung zu dieser Arbeit, sowie für die gütige Ueberlassung des Materials und die Durchsicht der Ausführungen meinen ehrerbietigsten Dank auszusprechen.

Ebenso sage ich Herrn Dr. Otten, Assistenzarzt der Medizinischen Klinik, für seine ständige liebenswürdige Unterstützung und seine häufigen Ratschläge an dieser Stelle meinen allerverbindlichsten Dank.

Literatur.

1. Uhlenhuth: Neuere Methoden der Sputumuntersuchung. Mediz. Klinik, Nr. 35 1909.
2. Uhlenhuth: Antiformin, ein bakterienauflösendes Desinfektionsmittel. Centralblatt für Bacteriologie, I. Abt. Bd. XLII, Beiheft.
3. Beitzke: Eine Fehlerquelle in der Antiforminmethode. Berl. Klin. Wochenschrift 1910 Nr. 31.
4. Hüne: Die Tuberkel-Bazillen-Anreicherung mittels Antiformin. Deutsche Mediz. Wochenschrift 1909 Nr. 41.
5. Thilenius: Ueber den Nachweis von Mikroparasiten in Sekreten und Exkreten mittels der Antiforminmethode. Berliner Klin. Wochenschrift 1909, Nr. 25.
6. Zahn: Ein neues einfaches Anreicherungsverfahren für Tuberkelbazillen. Münch. Med. Wochenschrift 1910, Nr. 25.
7. Mende: Zu dem Zahn'schen Anreicherungsverfahren für Tuberkelbazillen. Münch. Med. Wochenschrift 1910 Nr 25.
8. Lange und Nietsche: Eine neue Methode des Tuberkelbazillennachweises. Deutsche Mediz. Wochenschrift 1909 Nr. 10.
9. Bernhardt: Ueber die Verwendung von Antiformin und Ligroin für den Nachweis der Tuberkelbazillen im Sputum. Deutsche Mediz. Wochenschrift 1909, Nr. 33.
10. Haserodt: Neue Methoden zum Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum. Hygienische Rundschau 1899, Nr. 12.
11. Jörgensen: Ueber den Wert verschiedener Homogenisierung- und Sedimentierungsmethoden behufs des Nachweises der Tuberkelbazillen im Sputum. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. 66, II. Heft. — Eine Erwiderung von Lange und Nietsche findet sich in der Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. 67, I. Heft und eine Antwort von Jörgensen auf diese letztere in derselben Zeitschrift Bd. 68 I. Heft.
12. Blasius: cit. nach Lange und Nietsche: Die Ligroinausschüttelung. Zeitschrift für Hygiene, 67. Bd., I. Heft.

13. v. Scheven: Nachweis spärlicher Tuberkelbazillen im Sputum. Deutsche Mediz. Wochenschrift 1909 Nr. 37.
14. Herzfeld: Vergleichende Untersuchungen mit der Antiformin-Ligroin- und Ellermann-Erlandsen'schen Methode zum Nachweis der Tuberkelbazillen im Sputum. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. 66, II. Heft.
15. Ellermann und Erlandsen: cit. nach Jörgensen (11): Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. 66, II. Heft.
16. Goerres: Ueber den Nachweis von Tuberkelbazillen im Sputum mittels der Antiforminmethode. Zeitschrift für klinische Medizin Bd. 70, I. und II. Heft.

LEBENSLAUF.

Geboren am 12. Januar 1885 in Berlin, als Sohn des dortigen Bankiers Julius Benjamin, *kam ich 1891 in die Vorschule des Königl. Wilhelmsgymnasiums zu Berlin. 1898 bezog ich das dortige Dorotheenstädtische Realgymnasium, wo ich im Februar 1905 das Zeugnis der Reife erhielt. Ich bezog dann im Frühjahr 1905 die Universität Berlin, um mich dem Studium der Medizin zu widmen. Im Frühjahr 1906 ging ich nach Rostock i. M., wo ich nach 4 Semestern im Februar 1908 die ärztliche Vorprüfung bestand. Darauf diente ich vom 1. April bis 1. Oktober 1908 als Einjährig-Freiwilliger beim zweiten Garderegiment z. F. in Berlin und studierte auch noch das folgende Wintersemester in Berlin. Ostern 1909 bezog ich dann die Universität Tübingen, wo ich im Dezember 1910 mein medizinisches Staatsexamen beendete. Seit 15. Januar 1911 bin ich als Medizinalpraktikant an der Medizinischen Klinik Tübingen tätig.*